

ISOLASI DAN ELUSIDASI SENYAWA KIMIA DARI KULIT POHON *Garcinia tetrandra* PIERRE

Sri Hartati¹⁾, Soleh Kosela²⁾, Leonardus B. Kardono¹⁾, dan M. Hanafi¹⁾

1) Puslitbang Kimia Terapan LIPI Kawasan Puspiptek Serpong 15310

2) Jurusan Kimia Fakultas MIPA UI Depok

INTISARI

Telah dilakukan studi pendahuluan isolasi kandungan senyawa kimia dari kulit pohon *Garcinia tetrandra* Pierre (Guttiferae). Beberapa spesies dari famili tumbuhan ini dikenal sebagai obat tradisional dan beberapa telah diketahui mengandung beberapa senyawa bioaktif serta senyawa baru. Isolasi dilakukan dengan cara merendam kulit tanaman tersebut dalam *n*-heksana, ekstrak dimurnikan dengan menggunakan teknik kromatografi kolom silika gel G_{60} , *n*-heksana dan etil asetat sebagai eluen secara gradien. Dari hasil isolasi ditemukan dua senyawa murni, dan setelah dianalisa dengan metode gabungan spektroskopi UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan MS serta dibandingkan dengan literatur, dapat dinyatakan bahwa senyawa tersebut adalah xanton yaitu 15-hidroksi-20, 21, 22, 23-tetrametil-3H-11H-dipirano (3, 2-a; 2', 3'-i) xanten-17-on (Senyawa A), yang telah diketahui sebagai Thwaitesixanton dan suatu senyawa triterpen yaitu Hopanol - α (Hop - (22) (29) -en 3 - α ol) (Senyawa B).

ABSTRACT

A preliminary study was carried out to isolate the constituents of the stem bark of *Garcinia tetrandra* Pierre (Guttiferae). Several species of this family had been known as medicinal herb, some other contain bioactive constituents and novel compounds. The isolation were carried out by maceration in *n*-hexane where crude extract was purified using chromatographic technique on SiG_{60} column and *n*-hexane - ethyl acetate as eluents by gradient. Two pure compounds were found and their molecular structures were determined on the basis of combined spectroscopic methods UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and MS and comparison with literature. The compound had been identified as xanton, 15-hydroxy-20, 21, 22, 23-tetramethyl-3H, 11H-dipyrano (3, 2-a; 2', 3'-i) xanten-17-one (A), known as Thwaitesixanton and a triterpene as Hopanol - α (Hop-(22) (29)-en 3- α ol) (B).

PENDAHULUAN

Genus *Garcinia* merupakan tumbuhan tropis yang termasuk dalam familia Guttiferae yang terdiri dari atas 35 genera dan 400 species¹⁾. Tumbuhan ini banyak tersebar di Mexico, India, Afrika, Filipina dan Malaysia, dan di Indonesia yang dikenal sebagai tumbuhan manggis-manggis.

Famili ini terkenal mengandung getah kuning seperti *G. mangostana*, *G. dulcis*, *G. banburnyi* dan *G. morrellia*, dan merupakan sumber cat camboge dan vernis^(1,2,3,4). Beberapa famili dikenal sebagai obat misalnya akar dari *G. picorriza* Meg. dan *G. atroviridis* sebagai obat penurun demam, sedangkan jus daunnya diberikan pada wanita yang habis bersalin⁽⁴⁾, *G. mangostana* buahnya sebagai obat anti inflamasi dan obat diare⁽⁵⁾, *G. cowa* digunakan sebagai penurun demam⁽⁶⁾, *G. dulcis* digunakan sebagai obat tradisional untuk *lympatitis*, *struma*, *parolitis* dll.⁽⁷⁾. Ekstrak kulit batang *G. cambogia* sebagai antiobesitas yang bersifat inhibitor enzim lipogenase⁽⁸⁾.

Dalam tumbuhan genus *Garcinia* ini banyak pula ditemukan senyawa-senyawa baru misalnya garcinidon, assiguxanton A dan B dari *G. assigu*⁽⁹⁾, Dulxanton A, B, C, D, F, G, H dan I dari *G. dulcis*^(9,10,11), Latisxanton dari *G. latissima*⁽⁹⁾, Atroviridin-1 dari *G. atroviridis*⁽¹²⁾.

Secara umum kandungan kimia dari tumbuhan genus *Garcinia* ini adalah senyawa xanton dengan berbagai turunannya. Beberapa xanton yang ditemukan diantaranya memiliki sifat aktif biologis misalnya xantonoida terpoliprenilasi dari *G. gaudichaudii* bersifat sitotoksik terhadap beberapa jaringan sel kanker^(13,14). Mangostin dari *G. mangostana*⁽¹⁵⁾ dan empat xanton dari *G. subeliptica*⁽¹⁴⁾ mempunyai efek anti oksidan. Xantonoida lain dari *G. mangostana* mempunyai efek anti bakteri⁽¹⁷⁾, γ -mangostin sebagai anti HIV-1.⁽¹⁸⁾ Sedangkan 1, 4, 5 trihidroksi-2 (1,1-dimetil alil) xanton ditemukan dalam *G. gerrardii*, sebagai fungisidal terhadap *Clasdoforium curcumerium*⁽¹⁹⁾.

Penyebaran *Garcinia* sp. meliputi Kalimantan Timur, Pulau Borneo, Pulau Mindanao sampai Pulau Palo (Pilipina). Dari hasil studi pustaka tumbuhan ini belum pernah diteliti baik di Indonesia maupun di mancanegara. Sehingga belum diketahui kandungan senyawa kimianya maupun manfaatnya. Penelitian ini bertujuan sebagai studi awal untuk mengetahui kandungan kimia dari kulit pohon *G. tetrandra* Pierre. Tumbuhan ini diperoleh dari Hutan Penelitian Bulungan kabupaten Bulungan Kalimantan Timur.

BAHAN DAN METODA

Bahan:

Kulit batang *Garcinia tetrandra* Pierre. Nama dan jenis tumbuhan ini telah dideterminasi dan voucher spesimen disimpan di Herbarium Bogoriense.

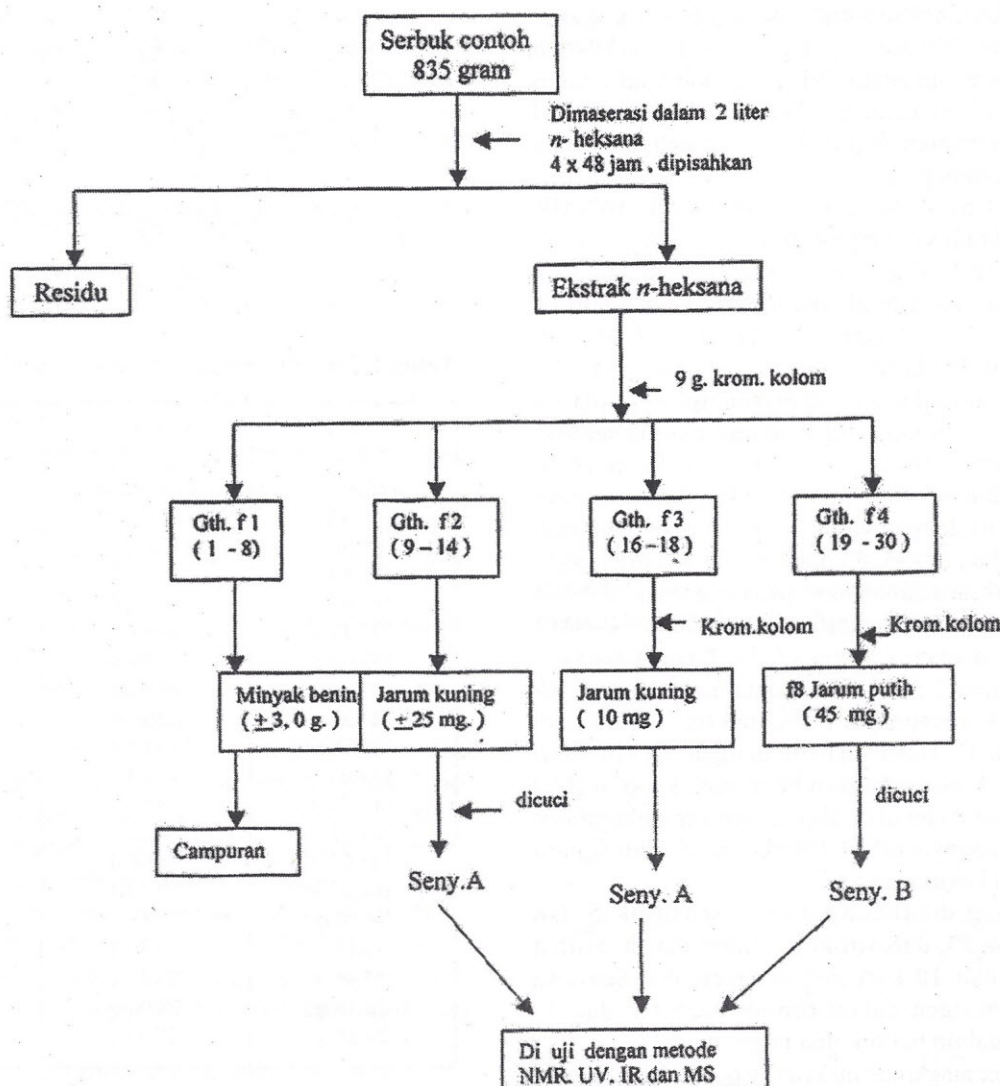
Kulit batang pohon *G. tetrandra* Pierre digiling dengan grinder, 835 g., bahan direndam dalam 2 liter *n*-heksana selama 3 x 48 jam, ekstrak dipekatkan dengan penguap vacuum berputar pada temperatur 40°C. Ekstrak dimurnikan dengan cara kromatografi kolom, dimana silika gel G₆₀ sebagai fasa diam dan *n*-heksana dan etil-asetat sebagai eluen yang dielusi secara gradien. Masing-masing fraksi hasil kromatografi kolom ditampung setiap 100–150 ml dikelompokkan berdasarkan kesamaan bercak noda dalam kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pendeteksi bercak metanol 10% dalam asam sulfat pekat. Setelah mendapatkan fraksi-fraksi murni struktur molekulnya ditentukan dengan cara spektroskopi resonansi magnetik inti (¹H NMR dan ¹³C NMR), Spektrofotometri Infra Merah (IR),

Spektrofotometri Ultra-Violet (UV) dan Spektroskopi massa (MS), serta diukur titik lelehnya. Diagram isolasi dapat dilihat pada diagram percobaan Gambar 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekastraksi dan Pemurnian

Dari ekstraksi dengan 3 x 2 liter *n*-heksana diperoleh 14,6 gram ekstrak berupa cairan kental berwarna coklat kekuning, 9 gram dari ekstrak tersebut dilakukan pemurnian dengan menggunakan kromatografi kolom silika gel. Dari fraksi 9–18 diperoleh suatu kristal jarum berwarna kuning oranye, kemudian dicuci dengan metanol dan direkristalisasi dalam *n*-heksana-kloroform, diperoleh kristal murni (bentuk jarum) sebanyak 34 mg yang disebut dengan senyawa A. Dari fraksi 19–30 diperoleh kristal berbentuk jarum berwarna putih, setelah dicuci dengan metanol dan direkristalisasi dengan heksan-kloroform diperoleh kristal 40 mg, yang disebut senyawa B.



Gambar 1. Diagram pemisahan senyawa kimia dari ekstrak kulit pohon *Garcinia tetrandra pierre*

Senyawa A

Berbentuk jarum berwarna kuning oranye, dengan titik leleh 242–244°C. Hasil pengamatan spektrum absorpsi UV menunjukkan puncak-puncak absorpsi pada daerah panjang gelombang (λ maks.): 242, 255, 294, 316, 331, 375, 409 nm dalam pelarut kloroform. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa ini mempunyai kerangka Xanton (239, 261, 287 dan 337 dalam pelarut alkohol)^(20, 21).

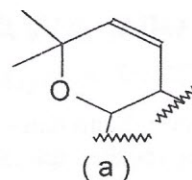
Dari hasil penyidikan spektrum infra merah senyawa A menunjukkan pita absorpsi pada bilangan gelombang 3398 cm^{-1} yang agak lebar merupakan vibrasi ulur dari gugus-OH dengan adanya jembatan hidrogen. Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk pada daerah 1298 cm^{-1} untuk gugus-OH. Sedangkan pita-pita absorpsi pada bilangan gelombang 2968 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur dari gugus-CH₃ asimetrik yang didukung oleh adanya pita absorpsi 1466 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk dari gugus-CH₃.

Adanya pita absorpsi pada bilangan gelombang 1648 cm^{-1} menunjukkan adanya suatu keton dan memperkuat adanya xanton⁽²⁰⁾. Dengan adanya pita absorpsi yang kuat (tajam) pada daerah 1364 cm^{-1} menunjukkan gugus =C(CH₃)₂ atau dimetil⁽²¹⁾. Kesimpulan dari spektrum UV dan IR senyawa A memiliki gugus OH, C=O (karbonil), gugus dimetil [C-(CH₃)₂] dan kerangka xanton dimana gugus OH kemungkinan membuat ikatan hidrogen dengan gugus karbonil (lihat Gambar 2).

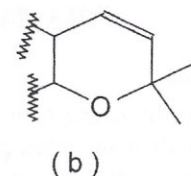
Dari pengamatan puncak sinyal-sinyal ¹H-NMR Senyawa A menunjukkan pergeseran kimia (δ) pada daerah 1, 46 (s, 6H) dan 1, 47 (s, 6H) menunjukkan adanya 2 dimetil proton aromatis pada cincin pyrano dan adanya δ = 8,02 ppm (1H, d, J = 10 Hz); 6, 73 (1H, d, J = 10 Hz); 5, 59 (1H, d, J = 10 Hz) dan δ = 5, 82 ppm (1H, d, J = 10 Hz) menunjukkan adanya dua pasang proton tipe AB. Adanya proton aromatis ditunjukkan oleh adanya puncak serapan pada δ = 7, 18 ppm (1H, d, J = 10 Hz); δ = 7, 16 ppm (1H, d, J = 10 Hz) dan δ = 6, 27 ppm (s, 1H). Adanya gugus OH yang terkelasi dengan gugus karbonil pada spektrum data ¹H-NMR pada δ = 13, 53 ppm (s, 1H). Adanya gugus karbonil yang terkelasi ditunjukkan pada spektrum ¹³C-NMR pada δ = 183, 4 ppm. Dari hasil pengamatan ¹³C-NMR Apt menunjukkan adanya 4 gugus CH₃; 7 gugus C-H = 7 dan 12 C kuartener Tabel 1). Dari data ¹H-NMR dan ¹³C-NMR senyawa A mempunyai dua puluh tiga atom C dan dua puluh atom H. Hasil analisis dengan spektrometri massa senyawa A menunjukkan berat molekul 376 [M⁺] mempunyai rumus molekul C₂₃H₂₀O₅. Dari kerangka xanton senyawa ini mempunyai nilai F (Jumlah cincin dan/ikatan) = 10, jadi masih kekurangan 4.

Oksigen yang dikandung dari A sebanyak 5 dan karbon sebanyak 23, dari struktur xanton masih terlihat ada 3 oksigen dan 10 karbon yang mengikat senyawa tersebut. Satu oksigen dalam bentuk hidroksi, dan 10 karbon diduga dalam bentuk dua isopren.

Dari kedua kemungkinan ini kedua isopren dalam bentuk 2,2 dimetil (-2H) pyrano yang terikat dalam kerangka xanton dalam bentuk seperti (a) atau (b)⁽²⁰⁾:



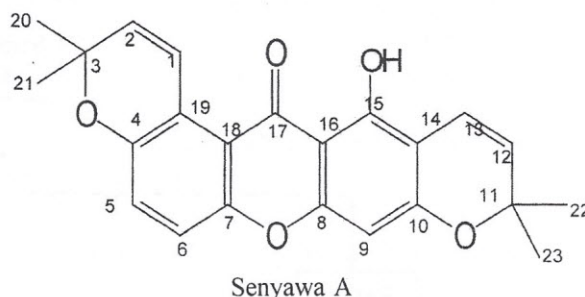
atau



Hal ini didukung pula oleh adanya proton tipe A B sebanyak 3 buah yaitu pada daerah δ (ppm) = 8, 01 (H1, d, J = 10 Hz); 7, 18 (H1, d, J = 10 Hz); 7, 16 (H1, d, J = 10 Hz); 6, 73 9 (H1, d, J = 10 Hz); 5, 82 (H1, d, J = 10 Hz) dan 5, 59 (H1, d, J = 10 Hz).

Dari studi literatur dicari data senyawa xanton yang memiliki rumus molekul yang sama dengan A ditemukan sebagai Thwaitesixanton^(20, 22), setelah dilakukan perbandingan spektra IR, massa dan ¹H-NMR (Tabel 2).

Senyawa Thwaitesixanton ini selain ditemukan dalam kulit batang dan akar *Calophyllum thwaitesii*^(20, 21) juga ditemukan dalam *Calophyllum walkeri*⁽²³⁾. Sedangkan dalam tumbuhan *G. tetrandra* Pierre ini adalah yang pertama kali ditemukan.



Tabel 1. Data ¹³C-NMR Senyawa A dan B

δ (ppm) A	δ (ppm) B	δ (ppm) B
183,31 s*	150,92 s*	27,43 t
160,44 s	109,31 t	25,17 t
157,80 s	79,0 d	20,96 t
156,60 s	55,33 d	19,32 q
151,61 s	50,47 d	18,34 t
149,24 s	48,33 d	18,02 q
132,63 d	47,98 d	16,12 q
127,26 d	43,01 s	15,99 q
124,21 d	42,86 s	15,37 q
120,78 d	40,86 s	14,57 q
119,83 s	40,01 t	
117,71 d	38,86 s	
115,55 d	38,72 t	
115,02 s	38,08 d	
104,27 s	37,19 s	
94,24 d	35,60 t	
78,11 s	34,31 t	
75,46 s	29,87 t	
26,36 q	28,00 q	
27,28 q	27,47 t	

* Ditentukan berdasarkan pengukuran APT (Attached Proton Test)

Tabel 2. Pergeseran Kimia Proton (δ ^1H) Thwaitesixanton⁽²⁰⁾ dan Senyawa A.

No. H	δ ^1H Thwaitesixanton (NMR 100 Mhz)	δ ^1H Senyawa A (NMR 400 Mhz)
1	8,02 (1H, d, $J = 10, 2$ Hz)	8,02 (1H, d, $J = 10$ Hz)
2	5,81 (1H, d, $J = 10, 2$ Hz)	5,82 (1H, d, $J = 10$ Hz)
4	—	—
5	7,17 (1H)	7,18 (1H, d, $J = 10$ Hz)
6	7,17 (1H)	7,16 (1H, d, $J = 10$ Hz)
9	6,28 (s, 1H)	6,27 (s, 1H)
12	—	—
13	5,59 (1H, d, $J = 10, 2$ Hz)	5,59 (1H, d, $J = 10$ Hz)
14	6,74 (1H, d, $J = 10, 2$ Hz)	6,73 (1H, d, $J = 10$ Hz)
15	13,53 (s, 1H)	13,50 (s, 1H)
20/21	1,48 (s, 6H)	1,47 (s, 6H)
22/23	1,46 (s, 6H)	1,46 (s, 6H)

Senyawa B : senyawa B yang diperoleh berbentuk jarum berwarna putih, dengan titik leleh 197,5–198°C. Data puncak-puncak absorpsi spektrum IR Senyawa B dapat dilihat pada Gambar 3. Adanya pita-pita absorpsi pada daerah 3311 cm^{-1} (tajam) menunjukkan adanya vibrasi ulur dari gugus OH bebas yang diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk –OH pada 1298 cm^{-1} . Sedangkan pada 2945 cm^{-1} dan 2845 cm^{-1} merupakan ulur –CH dari gugus = CH_2 dan – CH_3 diperkuat dengan adanya absorpsi pada daerah 1450 cm^{-1} dan 1383 cm^{-1} ⁽²⁵⁾. Daerah 1038 cm^{-1} adalah merupakan daerah vibrasi ulur C–O⁽²⁵⁾ dan adanya gugus alken ($\text{R}_2\text{C} = \text{CH}_2$) ditunjukkan oleh adanya pita absorpsi pada 881 cm^{-1} .

Dari analisis spektrum IR Senyawa B diperkirakan mengandung gugus-gugus –OH; CH_2 ; CH_3 dan alkena C = CH_2 .

Pengukuran spektrometri massa terhadap senyawa B memperlihatkan bahwa berat molekul senyawa ini adalah 426 [M^+] dan puncak dasarnya pada 189 (m/z , 100 %). Adanya puncak dasar 189 merupakan ciri dari suatu senyawa Hopanol^(27,28).

Dari data spektrum ^1H – NMR senyawa B menunjukkan adanya 6 gugus metil yaitu pada δ (ppm) : 0,74; 0,77; 0,81; 0,92; 0,94 dan 1,01, sedangkan gugus metil yang terikat pada gugus karbon olifenik terlihat pada δ 1,67 ppm (3 H, s). Keberadaan 7 gugus metil senyawa B juga didukung oleh data percobaan karbon Attached Proton Test ^{13}C - NMR (Tabel 1) yaitu 6 gugus metil tersier pada daerah δ = 14,57 ppm; 15,37 ppm; 15,99 ppm; 16,12 ppm; 18,02 ppm dan 19,32 ppm. Satu metil dari isopropil pada δ = 28 ppm.

Senyawa B mempunyai ikatan rangkap yang ditunjukkan oleh data ^{13}C -NMR pada δ 109,31 ppm ($\text{HC}=\text{C}$ -) dan 150,92 ppm (karbon olifenik kwartener) yang juga didukung oleh ^1H - NMR pada δ = 4,55 ppm dan 4,66 ppm masing-masing 1H.

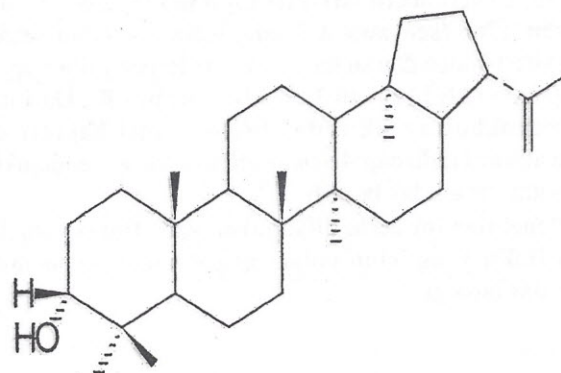
Adanya gugus OH pada IR diperkuat dengan data ^{13}C -NMR yaitu pada sinyal δ 79,50 ppm, adanya suatu alkohol skunder yang didukung oleh ^1H -NMR yang timbul pada δ

3,16 ppm (dd), konfigurasi dari gugus OH adalah α - karena bentuknya tidak lebar dengan kopling konstan sekitar 4,8 Hz dan 5,2 Hz {2–5 Hz⁽²⁵⁾}. Sedangkan bila konfigurasi β - bentuk sinyal terlihat lebar dengan kopling konstan sekitar 10–13 Hz untuk proton diaxial.

Dari hasil percobaan Apt ^{13}C -NMR diperoleh jumlah atom karbon keseluruhannya 30 yaitu dari 6 karbon kuwartener, 6 karbon metin, 11 karbon metilen dan 7 karbon metil (Tabel 4), satu oksigen dari gugus hidroksi sedangkan berat molekulnya adalah 426 [M^+]. Dengan demikian dapat dihitung jumlah hidrogennya sebanyak 50, maka dengan demikian rumus molekulnya adalah $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$.

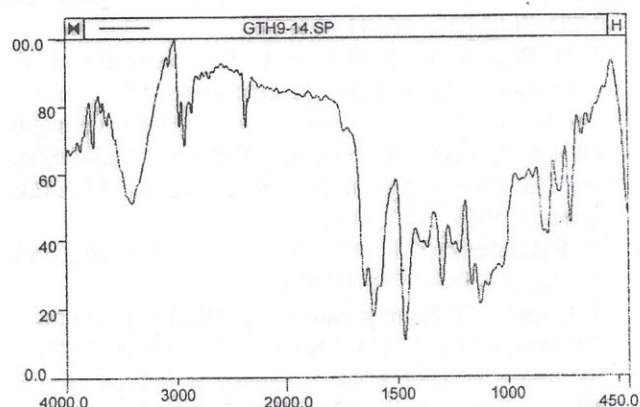
Senyawa B mempunyai satu ikatan rangkap dua, jadi senyawa ini mempunyai cincin 5. Dari penelusuran literatur dan data base senyawa Hop-(22) (29)-en -3 β -ol. Apabila fragmentasi ion molekulnya dibandingkan dengan data spektrum massa senyawa B ternyata datanya saling bersesuaian. Dengan adanya molekul-molekul ion dasar pada m/z = 189 menunjukkan Hopana (Daril D.R Graeme B.R.)⁽²⁶⁾ atau menunjukkan suatu triterpen (Wu dkk.)⁽²⁸⁾.

Jadi dapat disimpulkan bahwa senyawa B adalah senyawa triterpenoid dengan rumus molekulnya sebagai berikut:

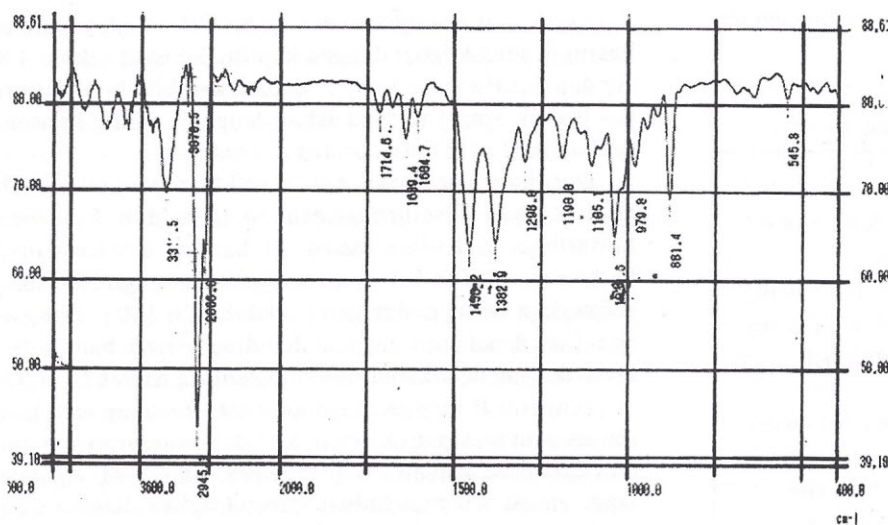


Senyawa B atau Hop - (22) (29)-en-3- α ol.

yaitu Hop-(22) (29)- en-3 α -ol. Senyawa dalam bentuk 3- α -hidroksi ini terdapat dalam tumbuhan *Sofium sebiferum* dan bentuk Hop-(22) (29)-en -3 β -ol ini antara lain terdapat dalam tumbuhan *E. supina*⁽²⁹⁾.



Gambar 2. Spektrum IR Senyawa A.



Gambar 3. Spektrum IR senyawa B

KESIMPULAN

Dari studi pendahuluan ini telah dapat diisolasi dan dielucidasi dua struktur kimianya yaitu, 15-hidroksi-20, 21, 22, 23-tetrametil-3H-11H-dipirano (3, 2-a ; 2', 3'-i) xanten-17on (senyawa A), yang telah diketahui sebagai Thwaitesixanton dan suatu senyawa triterpen yaitu Hopenol - α (Hop - (22) (29) -en 3 - α ol) (senyawa B). Dari hasil uji pendahuluan aktivitas biologi anti bakteri dan toksisitasnya terhadap *Artemia salina* Leach, menunjukkan aktivitas yang tidak berarti.

Penelitian ini perlu dilanjutkan pada fraksi yang lain atau fraksi yang lebih polar yang diharapkan memiliki aktivitas biologi.

DAFTAR PUSTAKA

- George H. M. Lawrence, *Taxonom Of Vascular Plants*, The Macmilan Company, New York, 603-604, (1955).
- E. W. M. Verheij, R. E. Coronel (edditor), *Plants Resources Of South - East Asia*, Prosea Bogor, (1992).
- M. W. A. Betty, *Malayan Fruits*, Donald Moore Press LTD. Singapore, 66-81, (1967).
- I. H. Burkill, W. Birtwistle, F. W. Foxworthy, J. B. Scrivenor, J. G. Watsan, *A Dictionary Of Economic Producds Of The Malay Peninsula*, Vol. 1, Gavverments Of The Straits Settlements And Federated Malay State By The Crown Agents For The Colonies, Milbank, London, 1046-1057, (1935).
- K. Balasubranian, K. Rajagopala, *Phytochemistry*, Vol. 27, No. 5, 1552-1554, (1988).
- L. Kitisak WT. Padungcharoen, C. Mahidol, Ruchirawat, *Phytochemistry*, Vol. 45, No. 6, 1299 - 1301, (1977).
- M. Inuma, H. Tosa, T. Ito, T. Tanaka, S. Riswan, *Chem. Pharm. Bull.*, 44, (9), 1744-1747, (1996).
- Chemical Abstract*, (1996), 256776, 128, 20.
- C. Ito, Y. Miyamoto, M. Nakayama, Y. Kawai, K. S. Rao and H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 45 (9), 1403-1413, (1977).
- S. Kosela, Li - Hong - Hu, See - Chung Y., T. Rachmatia, T. Sukri, S. D. Tida, Geok - Keng T. Jagades J. V., K. Y. Sim, *Phytochemistry*, 52, 1375 - 1377, (1999).
- S. Kosela, Li - Hong - Hu, T. Rachmatia, M. Hanafi, K. - Y. Sim, *J. Nat. Prod.*, 63, 406 - 407, (2000).
- K. J. Lee, N. Ruangrunsi, C. Ito, H. Furukawa, *Phytochemistry* Vol. 47, No. 6, 1167 - 1168, (1998).
- S. - G. Cao, H. L. Valeri, Wu, Xiao - Hua; K. - Y. Sim, B. H - K Tan, J. T. Pereira, Goh J. H, *Tetrahedron*, 54 (36), 10915 - 10924, (1998).
- S. - G. Cao, K. - Y. Sim, *Tetrahedron Letter*, 39 (20), 3353 - 3356, (1998).
- Chemical Abstract*, 2999777c, Vol. 125. No. 23, (1996).
- M. Hiroyudi, *Phytochemistry*, Vol. 36, No. 2, 501 - 506, (1994).
- M. Inuma, H. Tosa, T. Tanaka, F. o Asai, Y. Kobayashi, R. Shimaoto, K. I. Miyauchi, *J. Pharm. Pharmacol.* 48, 861 - 865 (1996).
- S. X. Chen, W. Min, B. N. ,Loh *Planta Medica*, 62 (4), 381 - 382, (1996).
- Prest V. and T. J. Nagem, (1977), *Phytochemistry*, Vol. 44, No. 2, 191 - 214.
- M. Danayake, I. Kitagawa, S. Ratnawasmy, U. S. Sultanbawa, *J. Chem. I Soc. Perkin Trans I*, 2510 - 2514, (1974).
- A., I. Scott, *Interpretation of UV Spectra Of Natural Products*, Pergamon Press (1964).
- H. W. Ranjith D. S. Subrmaniam, B. Sinnathamby, R. Johanes, *Phytochemistry*, Vol. 25, No. 8 p. 1957 - 1959, (1986).
- S. Ampopo, P. G. Waterman, *Phytochemistry*, Vol. 25, No. 11, p. 2617 - 1620, (1986).
- J. Mann, *Secondary Metabolism*, Oxford University Press Inc., New - York, 261, (1980).
- D. H. Wiliam, I. Fleming, *Spectroscopic Method in Organic Chemistry*, 4th Ed. McGraw - Hill Book Company, London, (1989).
- D. D. Rowan, G. B. Russell, *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 2, p. 702 - 703, (1992).
- S. Matsunaga, R. Morita, *Phytochemistry*, Vol. 22, No. 2, p. 605 - 606, (1983).
- T. S. Wu, H. Furukawa, *J. Nat. Prod.*, Vol. 45, No. 6, p. 722 - 724, (1982).
- J. Ex. Buckingham (Ed.), *Dictionarry of Natural Product*, Vol 1 - 7, Type of Compound Index, Species Index, Chapman & Hall, London- Glasgow, Tokyo Melbourne, (1992).